

基础研究

椎旁肌失神经支配能产生脊柱侧凸畸形吗?

贾惊宇¹, 张立军¹, 朱晓丹¹, 王晓威¹, 赵桂锋²

(1 中国医科大学附属盛京医院儿童骨科 110003 沈阳市; 2 中国医科大学附属盛京医院动物部 110003 沈阳市)

【摘要】目的:应用兔脊神经后支切断, 椎旁肌失神经支配动物模型, 观察是否形成凸向失神经支配侧脊柱侧凸畸形。**方法:**日本大耳白兔 96 只, 雌雄各半, 体重 500~700 克, 兔龄 4~6 周, 随机分为实验组及对照组, 实验组按照单、双侧椎旁肌分离与否分为实验组 A 及 B 两组, 此两组根据右侧脊神经根后支切除节段(4、6、8 个节段)不同再分为 3 个亚组。对照组内各亚组手术操作同实验组, 但不切断神经根后支。术后 1、2、3 个月摄片观察脊柱侧凸变化。术后 3 个月椎旁肌 HE 染色观察神经根切断侧肌肉是否萎缩。**结果:**术后 3 个月椎旁肌裸视下观察及 HE 染色观察肌纤维均见神经切断侧肌肉明显萎缩, 但各实验组均未发现有凸向失神经支配侧的脊柱侧凸畸形。**结论:**通过该方法造成幼兔单侧椎旁肌失神经支配, 不易诱发脊柱侧凸畸形。

【关键词】 脊柱侧凸; 椎旁肌; 失神经支配; 兔

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2010.11.10

中图分类号: R682.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2010)-11-0926-04

Can experimental denervation of paravertebral muscles induce scoliosis/JIA Jingyu, ZHANG Lijun, ZHU Xiaodan, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2010, 20(11): 926~929

【Abstract】 Objective: To establish the animal model of unilateral denervation of paravertebral muscles by sectioning the dorsal ramus of the spinal nerves, and to observe whether this will induce scoliosis with curve convex to the damaged side. **Method:** 96 Japanese white rabbits (female: male, 1:1) were included in this research. The weight ranged from 500g to 700g, and the rabbits aged from 4 to 6 weeks. All animals were randomized into experiment group ($n=48$) and control group ($n=48$). The experimental group was divided into 2 groups (group A and B) based on unilateral or bilateral paravertebral muscles section, and these 2 groups were divided into 3 subgroups according to varied segments of dorsal ramus section (4, 6, 8 segments), while the same surgical maneuver, except for sectioning of dorsal ramus, were performed in control group. At 1, 2 and 3 months after operation, radiographs were taken to observe the spinal curve, and histoimmunocytochemistry test were used to determine the atrophy of paravertebral muscles. **Result:** 3 Months after operation, apparent atrophy of paravertebral muscles at sectioning side was visualized through naked eyes and HE staining in experiment groups, but no scoliosis with curve convex to the damaged side developed. **Conclusion:** Unilateral denervation of paravertebral muscles does not induce scoliosis with curve convex to the damaged side.

【Key words】 Scoliosis; Paravertebral muscles; Denervation; Rabbits

【Author's address】 Department of Pediatric Orthopaedics, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang, 110003, China

特发性脊柱侧凸(IS)作为一种复杂的三维畸形,其发病机制至今未明。椎旁肌作为躯干反射的最终效应器官,其病理改变与脊柱侧凸的关系一直是人们关心热点。脊神经前、后根切断和肋间神经切断建立脊柱侧凸动物模型国外已有报道^[1-3]。但在椎间孔水平切断单侧脊神经后支,仅造成椎

旁肌失神经支配,是否形成脊柱侧凸畸形尚未见报道。本实验通过在椎间孔水平切断单侧不同节段、不同数量的脊神经后支,造成单侧椎旁肌失神经支配,观察是否形成凸向失神经支配侧脊柱侧凸畸形。

1 材料和方法

1.1 实验材料

日本大耳白兔 96 只,雌雄各半,体重 500~

第一作者简介:男(1981-),医学硕士,研究方向:脊柱畸形

电话:(024)96615-57511 E-mail:jia-jingyu@163.com

通讯作者:张立军 E-mail:franklj@sj-hospital.org

700g, 兔龄 4~6 周。按照切除神经节段不同, 随机分为 2 个实验组, 2 个对照组。实验组 A 24 只, 分为 3 个亚组, 每组 8 只, A1 组切除右侧 T11~L2 四个节段脊神经后支, A2 组切除右侧 T10~L3 六个节段脊神经后支, A3 组切除右侧 T9~L4 八个节段脊神经后支。实验组 B 24 只, 分组同上, 但肌肉钝性分离范围为双侧(见实验方法)。对照组 A 组和 B 组各 24 只, 手术范围与实验组相对应(表 1), 但不切断神经根。颗粒饲料、自来水笼内饲养。术后兔死亡 24 只, 实验中补充 24 只。

1.2 实验方法

10%水合氯醛(3~5ml/kg)腹腔注射麻醉。麻醉后俯卧位常规备皮、消毒, 选取后背正中切口, 长约(3~5)cm。于上关节突旁 2mm 处切开竖脊肌筋膜, 顺着肌纤维走行垂直钝性分离肌肉(不切除切断肌肉), 范围约 6mm。实验组 A: 右侧相应节段脊神经后支暴露后在近椎间孔出口处切断、切除约 5mm 神经组织, 左侧不做任何操作。对照组 A: 均行右侧相应节段脊神经后支暴露术, 但不切断、切除神经组织, 左侧不做任何操作。实验组 B: 右侧相应节段脊神经后支暴露后切断、切除 5mm 神经组织, 左侧手术暴露神经根同右侧, 但不切断、切除神经。对照组 B: 左右侧均行相应节段脊神经后支暴露术, 但不切断、切除神经。术中脊神经后支判定: (1)解剖定位, 上关节突下、椎间孔水平可见一白色纤维组织, 有分叉, 两分支分布到远端椎旁肌肌肉, 近端由椎间孔发出; (2)钳加该组织, 可见兔竖脊肌收缩; (3)切断切除后无出血(可除外血管); (4) 术后将切除物行 HE 染色确定为神经组织。术毕缝合肌肉、筋膜、皮肤, 再次消毒无菌辅料覆盖, 白炽灯烤至兔麻醉清醒回笼。术后青霉素 8 万单位连续臀肌注射 5~7d。

术后观察兔四肢活动, 判断手术是否损伤脊神经前支。术后将切除物行 HE 染色观察是否为神经组织。术后 3 个月行椎旁肌裸视下观察和 HE 染色观察神经切断侧肌肉是否萎缩。术后 1、2、3 个月摄片观察脊柱曲度变化。

1.3 统计分析

采用 SPSS 17.0 统计学软件统计分析, 所得数据采用 X^2 Fisher 确切概率法分析, 设 $P < 0.05$ 差别有统计学意义。

2 结果

组织学检查证实切除为神经组织(图 1、2), 术后 3 个月椎旁肌裸视下观察及 HE 染色见神经切断侧肌肉明显萎缩(图 3~4), 但各实验组均未发现有凸向右侧(失神经支配侧)的脊柱侧凸畸形(表 1, 图 5)。仅部分兔形成凸向左侧(失神经支配侧)的脊柱侧凸畸形(表 1, 图 6): 实验组 A2 凸向左侧 2 只, Cobb 角分别 28° 、 32° , A3 组凸向左侧 4 只, Cobb 角分别 28° 、 30° 、 35° 、 37° 。对照组 A2 凸向左侧 3 只, Cobb 角分别 25° 、 32° 、 35° , A3 组凸向左侧 3 只, 分别 28° 、 33° 、 40° 。实验 A 组和对照组 A 组, 脊柱左侧凸发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。实验 A 组和实验 B 组, 对照组 A 和对照组 B 脊柱左侧凸发生差异均有统计学意义($P < 0.05$)。实验组 A(A1、A2 及 A3 组)组内比较, 脊柱左侧凸发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。对照组 A 组内比较, 脊柱左侧凸发生率差异也无统计学意义($P > 0.05$)。实验组 B 组及对照组 B 组各组两两比较差异均无显著性($P > 0.05$)。

3 讨论

正常脊柱姿势反射是保持躯干平衡的先决条件, 此反射源于本体感受器, 内耳前庭器官及视器, 止于脑干平衡中心。其中任一环节发生紊乱, 均可造成脊柱的稳定性失衡。临床研究对于特发性脊柱侧凸(idiopathic scoliosis, IS)患者位置觉、震动觉和前庭功能异常早有报道, 有学者^[1-4]认为 IS 患者本体感觉传导通道异常、躯干平衡调节功能障碍可能与脊柱侧凸发生有关。然而在临床研究发现并非所有的 IS 患儿都存在上述传导通路异常。Nault 等^[5]和殷刚等^[6]研究认为 IS 患儿平衡功能异常并非是 IS 发生的病因, 可能为脊柱三

表 1 幼兔不同节段脊神经后支切断术后 3 个月脊柱侧凸变化

	实验组 A ^①			对照组 A ^②			实验组 B			对照组 B			总计
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	
凸向右侧	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0(只)
凸向左侧	0	2	4	0	3	3	0	0	0	0	0	0	12(只)

注: ①与实验组 B 比较 $P < 0.05$, ②与对照组 B 比较 $P < 0.05$

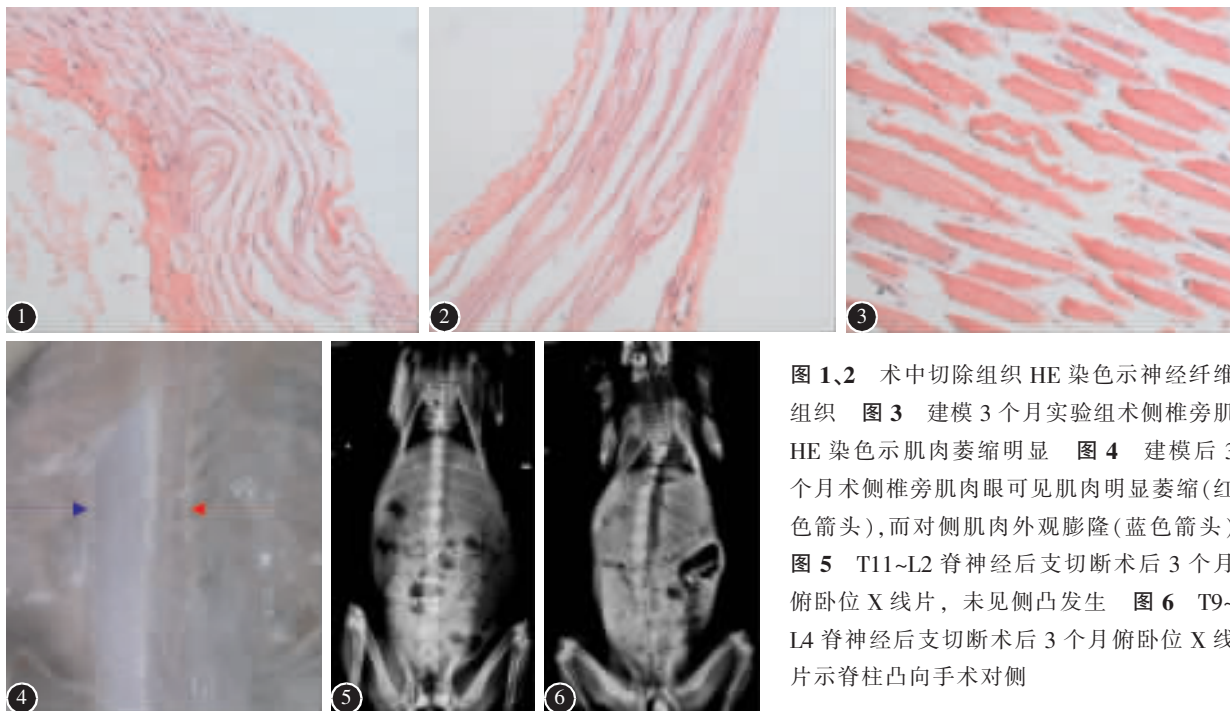


图 1、2 术中切除组织 HE 染色示神经纤维组织 图 3 建模 3 个月实验组术侧椎旁肌 HE 染色示肌肉萎缩明显 图 4 建模后 3 个月术侧椎旁肌肉眼可见肌肉明显萎缩(红色箭头),而对侧肌肉外观膨隆(蓝色箭头) 图 5 T11~L2 脊神经后支切断术后 3 个月俯卧位 X 线片,未见侧凸发生 图 6 T9~L4 脊神经后支切断术后 3 个月俯卧位 X 线片示脊柱凸向手术对侧

维畸形后的继发结果。在动物实验研究中证实脑干破坏^[7]、脊髓后角和 Clarke 柱损伤等^[1]均可诱发脊柱侧凸畸形。Pincott 等^[2]和 Suk 等^[3]分别切断猴和兔单侧脊神经前、后根也成功建立凸向失神经支配侧的脊柱侧凸畸形,认为本体感觉传导通路异常致使双侧肌力失衡可能与特发性脊柱侧凸畸形的发生有关。然而他们的实验均于椎管内切断脊神经前后根,因此椎板骨质破坏不可避免。虽然对照组未发生脊柱侧凸,但多节段椎板及韧带切除损伤了相应肌肉、肌腱的附着,在一定程度上破坏了脊柱外源性稳定系统。Peter 等^[8]报道选择性脊神经后根切断术治疗痉挛性脑瘫患者 55 例,手术多节段椎板切除手术患者的临床和放射学随访示脊柱侧凸发生率 16%,脊柱后凸发生率 5%。同时,上述实验在椎管内切断脊神经前或后根后,不仅使相应节段椎旁肌失神经支配,该节段内其他辅助脊柱平衡调节的肌肉也受到影响(如腹内外斜肌、腰方肌等),使脊柱平衡调节代偿能力下降,不利于评价单纯椎旁肌失神经支配对 IS 发生发展的影响。Pincott 等^[2]椎管内切断猴脊神经前、后根的实验表明,单一节段的神经支配缺陷所导致的肌力失衡很快被附近正常的肌肉代偿。当肌肉失神经支配节段较多时,肌肉代偿能力下降、脊柱侧凸发生。同时实验数据还表明 L1 节段神经根切断有明显引起脊柱侧凸的作用。因此,本次实验

以 T12 和 L1 椎体为中心,在不破坏椎体及附件骨质结构的情况下,分别于椎间孔水平切断 4、6、8 个节段的脊神经后支,观察椎旁肌失神经支配、本体感觉传导通路障碍是否能够产生脊柱侧凸畸形,脊柱侧凸的发生是否与椎旁肌失神经支配的节段数量相关。

本次试验通过钝性分离椎旁肌暴露脊神经后支,虽然不对肌肉进行切除切断操作且分离范围较小(每节段约 6mm),肌肉损伤相对较轻,但随着神经节段切除增多、椎旁肌分离范围增大,术后椎旁肌瘢痕挛缩产生的牵拉力可能会抵消部分椎旁肌失神经支配后脊柱凸向手术侧的作用力。为了除外术后手术侧肌肉瘢痕挛缩形成牵拉力对侧凸发生的影响,此次实验设立了实验组 B 和对照组 B。B 组可使左右侧肌肉损伤程度近似相等,但术后 3 个月摄片观察各实验组仍未发现有凸向失神经支配侧脊柱侧凸畸形,这与文献报道不一致:动物实验^[1-3]损伤单侧脊髓、脊神经前、后根后脊柱两侧肌力失衡,脊柱凸向失神经支配侧。其椎旁肌病变主要位于凸侧(失神经支配侧),即凸侧肌细胞变性坏死、肌细胞浆减少、肌纤维直径减小、肌纤维成角、萎缩的肌纤维间脂肪组织增生等病理改变^[3]。凹侧椎旁肌病变较轻,为侧凸后的继发性改变。凹侧椎旁肌肌力大于凸侧。与此相反的是,IS 患者凹侧椎旁肌肌纤维变性坏死、肌肉萎

缩程度大于凸侧。凹侧椎旁肌的肌纤维含量、直径、横截面积、肌力均小于凸侧,凸侧椎旁肌病变可能为侧凸后的继发性改变^[9-12]。因此上述动物实验所诱发脊柱侧凸畸形的椎旁肌病理改变与 IS 患者椎旁肌病变并不相符,而与临床中见到的部分神经肌肉性脊柱侧凸的病变更为相似,如脊髓空洞、脊髓灰质炎等疾病诱发的脊柱侧凸畸形。本次实验在椎间孔出口处切断脊神经后支,术后 3 个月椎旁肌病理改变也与神经源性脊柱侧凸的病理改变相似。但与上述动物实验和神经肌肉性脊柱侧凸不同的是,本次实验椎旁肌失神经支配后并未产生脊柱侧凸畸形。一方面可能是因为神经损伤位置不同,致使相应肌肉失神经支配的范围不同导致的;另一方面,本次实验仅造成单侧 4~8 节段椎旁肌失神经支配,未失神经支配的椎旁肌和其他辅助脊柱平衡调节的肌肉,在平衡调节中枢正常的情况下,可进行代偿调节而不发生脊柱侧凸畸形。动物实验损伤单侧脊髓、椎管内脊神经前、后根后所产生的脊柱侧凸和脊髓空洞、脊髓灰质炎等疾病产生的神经肌肉性脊柱侧凸相同之处是均存在较大范围的肌肉病变,即除椎旁肌外其他辅助脊柱平衡调节的肌肉也受到不同程度的影响,这将导致脊柱平衡代偿调节能力下降,易产生脊柱侧凸畸形。提示:神经传导通路功能障碍在后支以上的部位产生脊柱侧凸畸形的可能性较大。除此之外,兔与人类两足直立行走的姿势不同,所形成的脊柱生物力学机制也不完全一致。Machida 等^[13]分别对四足鼠和两足鼠行松果体切除术,但术后仅两足鼠产生脊柱侧凸畸形。Adam 等^[14]认为 IS 患儿椎体发生旋转可能是由于直立姿势下躯干的重力作用所产生扭转力矩导致的。上述两位学者均论证了直立行走姿势在脊柱侧凸发生发展过程中重要的作用,而兔为四足动物与人类两足直立行走的脊柱生物力学机制存在的差异。

实验组 A(A2、A3 组)和对照组 A(A2 组、A3 组)12 只兔术后 3 个月发生凸向左侧、长“C”字形的脊柱侧凸,考虑为术后右侧椎旁肌肉瘢痕挛缩牵拉所造成的。结果也提示单侧椎旁肌肉钝性范围分离超过 4 个节段后产生凸向手术对侧的脊柱侧凸畸形可能性将增加。但是由于样本量较小,结

果的可靠性尚需进一步验证。本次试验神经切除最多为 8 个节段,但若增加切除数量,兔死亡率明显增加,则应用受到限制。

4 参考文献

1. Pincott JR, Taffs LF. Experimental scoliosis in primates: a neurological cause[J]. J Bone Joint Surg Br, 1982, 64(4): 503-507.
2. Pincott JR, Davies JS, Taffs LF. Scoliosis caused section of dorsal spinal nerve roots [J]. J Bone Joint Surg Br, 1984, 66: 27-29.
3. Suk SI, Song HS, Lee CK. Scoliosis induced by anterior and posterior rhizotomy[J]. Spine, 1989, 14(7): 692-697.
4. Guo X, Chau WW, Hui-Chan CW, et al. Balance control in adolescents with idiopathic scoliosis and disturbed somatosensory function[J]. Spine, 2006, 31(14): E437-E440.
5. Nault ML, Allard P, Hinse S, et al. Relations between standing stability and body posture parameters in adolescent idiopathic scoliosis[J]. Spine, 2002, 27(17): 1911-1917.
6. 殷刚, 邱勇, 王斌, 等. 青少年特发性和先天性脊柱侧凸患者与正常青少年平衡能力的差异性研究 [J]. 中国骨与关节外科杂志, 2009, 2(3): 179-186.
7. Barrios C, Arroategui JL. Experimental kyphoscoliosis induced in rats by selective brain stem damage [J]. Int Orthop, 1992, 16(2): 146-151.
8. Peter JC, Hoffman EB, Arens LJ, et al. Incidence of spinal deformity in children after multiple level laminectomy for selective posterior rhizotomy [J]. Childs Nerv Syst, 1990, 6(1): 30-32.
9. 邱勇, 吴亮, 王斌, 等. 特发性脊柱侧凸两侧椎旁肌的影像学差异及其临床意义[J]. 中华骨科杂志, 2006, 26(4): 228-231.
10. 贾惊宇, 孙英伟, 张立军, 等. 特发性脊柱侧凸患者两侧椎旁肌横截面积的 CT 测量[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2009, 19(3): 208-211.
11. 吴亮, 邱勇, 王斌, 等. 脊柱侧凸椎旁肌纤维不对称性分布的研究[J]. 脊柱外科杂志, 2004, 2(5): 276-279.
12. 吴亮, 邱勇, 王斌, 等. 特发性脊柱侧凸患者两侧椎旁肌肌梭与运动终板病理学变化的对比研究 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2008, 18(3): 222-226.
13. Machida M, Murai I, Miyashita Y, et al. Pathogenesis of idiopathic scoliosis; experimental study in rats[J]. Spine, 1999, 24(19): 1985-1989.
14. Adam CJ, Askin GN P, Percy MJ. Gravity-induced torque and intravertebral rotation in idiopathic scoliosis [J]. Spine, 2008, 33(2): E30-E37.

(收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-09-19)

(英文编审 蒋欣/刘思麒)

(本文编辑 刘彦)